

Siguiendo a Metchnikoff

Dr. Mauricio Goihman Yahr

e-mail: mgoihmanyahr@gmail.com

RECONOCIMIENTOS

La parte experimental original reseñada en este trabajo fue llevada a cabo con la ayuda de un equipo.

La parte nuclear del mismo estuvo formada por María Helena de Gómez, Ana Ocanto de Román, Blanca San Martín y José Pereira así como Virginia Romero G. en los inicios.

Varios tesisistas formaron parte del equipo en diferentes épocas, entre ellos J.J. Villegas, Tulio Molina y Gloria Urquiola. Investigadores de diversos laboratorios e instituciones colaboraron de manera fecunda entre ellos Antonio Bretaña, Luis Villalba Pimentel, María Cecilia de Albornoz, Luis Yarzabal, Imelda Campo-Aasen, F.J. Tapia y muy especialmente el núcleo Neumonológico del Hospital José Ignacio Baldó (El Algodonal) entre ellos muy particularmente Alex Rothenberg, Guillermo Istúriz, y Enrique Avila Millán.

Muy recientemente mi antiguo colaborador, José Pereira tomó parte activa en la recopilación de la bibliografía reciente y el análisis inicial de la misma.

Nuestro trabajo clínico y de investigación se llevó a cabo en el Hospital Vargas de Caracas y en el Instituto Nacional de Dermatología (ahora Biomedicina) cuyo Director era Jacinto Convit. Todo bajo la égida de la Facultad de Medicina y de la Escuela de Medicina José María Vargas de la Universidad Central de Venezuela.

Trabajo presentado a la consideración de la Academia Nacional de Medicina como requisito para la incorporación del autor como Miembro Correspondiente Nacional.

Las labores de Investigación no hubiesen sido posibles sin el financiamiento proporcionado fundamentalmente por el entonces vigente Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) y el Ministerio de Ciencia y Tecnología. También contamos con el apoyo del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela y de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Hubo asimismo labor efectuada fuera del país, tanto en los inicios de mi carrera científica, como ya en etapas posteriores. Me refiero a los trabajos en el Departamento de Microbiología Médica de la Universidad de Stanford (California, EE.UU) bajo la dirección de Sidney Raffel y luego en los Departamentos de Hematología y Oncología de la Universidad de California (Los Angeles (EE.UU) bajo la dirección de Martin Cline y el Departamento de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Washington en Seattle, Estados Unidos dirigido por Seymour Klebanoff.

Los consejos y la información proporcionados por Libero Ajello y Leo Pine del Center for Communicable Diseases (Luego Centers for Disease Control) de Atlanta, Georgia, EE.UU, fueron invalorable.

Algunos de los mencionados arriba no se encuentran ya entre nosotros pero eso no disminuye mi aprecio por ellos ni el valor de lo que aportaron.

Toda labor científica y sobre todo toda línea sostenida de trabajo forma parte de la trama de la vida de quien la lleva a cabo. Ello involucra de manera predominante a la familia. En la mía, desde 1969, el fulcro lo constituye mi esposa Karyn Myriam

Kupferschmied de Goihman (Miriam para mí). A ella se dirigieron mis esfuerzos y sin Miriam no se hubiese llevado nada a cabo. Este trabajo lo dedico a ella, así como a nuestros hijos Herman Zvi y Moisés Roberto y a la memoria de mis padres Boris Goihman y Emilia Yahr de Goihman.

RESUMEN

Presentamos un destilado de los resultados experimentales y de las consecuencias conceptuales de una línea de investigación multifacética pero coherente que abarca varias décadas.

El énfasis fundamental se hace sobre el funcionamiento de los fagocitos en las enfermedades granulomatosas producidas por agentes vivos y que son propias del medio venezolano. A saber, la lepra y la paracoccidioidomicosis. En ambas se encuentra que la capacidad digestiva de los fagocitos (macrófagos solamente en el caso de la lepra y polinucleares y macrófagos en el caso de la paracoccidioidomicosis) está en relación directa con la resistencia al agente causal, con la respuesta al tratamiento, con la forma clínica y el pronóstico así como con el tipo de respuesta inmunológica que tiene lugar. La presencia de una buena capacidad digestiva está relacionada con la respuesta inmunológica mediada por células linfoides (hipersensibilidad retardada). Demostramos inicialmente de modo inequívoco que la hipersensibilidad granulomatosa (p.ej. la lepromínica) pertenece a ese tipo de respuesta. Asimismo desarrollamos los conceptos del procesamiento por los fagocitos y de la interacción entre las diversas estirpes fagocitarias para determinar la dirección de la respuesta inmune hacia un germen intracelular dado. La interacción mencionada no es unidireccional. La información fluye por vías complejas y caracterizadas solo parcialmente.

Las capacidades digestiva y letal de una célula frente a un microorganismo son funciones interrelacionadas pero no necesariamente idénticas. Tienen mucho que ver con las paredes celulares de los gérmenes causales. Asimismo, en las entidades estudiadas, las deficiencias en esas propiedades son específicas. Ello tiene valor incluso para la caracterización de la individualidad de especies patógenas relacionadas (v.g. el Paracoccidioides brasiliensis y la Loboia lobo).

Se hizo énfasis en el estudio del "órgano de choque" (la mejor forma de apreciar una obra de teatro es ver una representación de la misma). Así estudiamos la interacción neutrófilos, macrófagos y P. brasiliensis en células obtenidas directamente del espacio broncoalveolar. Diseñamos asimismo un método para estudiar las células del exudado dérmico subcutáneo.

Finalmente, efectuamos una puesta al día de los hallazgos más importantes, en nuestra opinión, ocurridos en la última década, en el área de conocimiento que nos ocupa. Se hizo énfasis más en el aspecto conceptual que en

los detalles técnicos. Si bien estos últimos se encuentran en las referencias citadas.

Nos ha parecido llamativo el parentesco que se ha hecho evidente entre los procesos que emplean los organismos patógenos y las células fagocitarias para llevar a cabo sus correspondientes tareas. Entre ellas, la migración a través de endotelios y epitelios y la fagocitosis. Así como los procesos de reconocimiento de las estructuras de las membranas y la influencia de factores bioquímicos y hormonales.

La filosofía general del trabajo es la de un esfuerzo para concentrar la información obtenida en mucho tiempo por la labor investigativa publicada por varios autores y nosotros mismos. De esta manera, tratamos de hacer posible una presentación que merezca no solo la atención de los especialistas en el tema sino también de los médicos y biólogos en general.

Palabras clave: Digestión intracelular. Fagocitosis. Granulomas. Hipersensibilidad retardada. Lepra. Macrófagos. Neutrófilos. Paracoccidioidomicosis.

SUMMARY

We present the gist of experimental findings and conceptual results of a multifaceted, but coherent, line of research. The latter spanned several decades.

Main emphasis is over the functioning of phagocytes in two granulomatous diseases produced by live organisms prevalent in Venezuelan environment. Namely, leprosy and paracoccidioidomycosis.

In both instances it was found that the digestive capacity of phagocytes (macrophages only in leprosy and neutrophils and macrophages in paracoccidioidomycosis) towards the respective causative microorganism, was in direct relationship to resistance to the latter. It also was congruent with response to therapy, clinical form and prognosis and with the kind of specific immune response.

A good digestive ability is related to cell-mediated (delayed) immunity. We showed unequivocally, that granulomatous hypersensitivity (e.g. the Mitsuda reaction) is mediated by lymphoid cells.

We also developed the concepts of phagocyte processing and that of interaction between diverse phagocytic cells to determine the direction of an immune response against a given intracellular parasite. This interaction is not unidirectional. Information flows by routes that are complex and only partially characterized.

Digestive and lethal abilities of a phagocyte against a given microorganism are interrelated, but not necessarily identical functions. They have a lot to do with cell walls of microorganisms. In addition, in the diseases studied, deficiencies in these properties are specific. This applied to the point of having value to determine individuality of related pathogenic species (e.g. P. brasiliensis and L. lobo).

We also emphasized studying the “shock organ” (the best way to appreciate a play is to attend its representation). Thus, we explored the interaction of neutrophils, macrophages and P. brasiliensis in cells directly obtained from the bronchoalveolar space. We also designed a chamber to study cells from subdermal exudate.

Finally, we did an update of the most relevant findings (from our viewpoint and in our area of interest) that have taken place in the last decade. We stressed concepts rather than technical details (for the latter see references).

Phagocytic cells and invading pathogens do employ related mechanisms to perform their respective tasks. Among these are migration through endothelia and epithelia and phagocytosis, recognizing membrane structures and the influence of biochemical and hormonal factors.

The general philosophy of this work is that of an effort to concentrate information obtained in a long span by research published by several authors and ourselves. In this fashion we tried to make a presentation that might interest not only specialists in the field, but also physicians and biologists in general.

Key words: Intracellular digestion. Phagocytes. Granulomas. Delayed hypersensitivity. Leprosy. Macrophages. Neutrophils. Paracoccidioidomycosis.

INTRODUCCIÓN

La inmunología comienza como ciencia con una neta división entre los aspectos humorales preconizados por Ehrlich y los celulares abanderados por Metchnikoff. La diferencia en los enfoques nace quizá de las bases de la formación inicial de esos grandes científicos. Ehrlich tenía una orientación inicial hacia la ciencia de las tinciones y la química. Metchnikoff era originalmente un zoólogo. Es muy interesante que en esta disciplina donde el reconocimiento de lo propio y de lo extraño es tan importante; así como en la psiquiatría y la dermatología similares en ese sentido, el aporte judío haya sido tan fundamental (Figuras 1 y 2).

Los conocimientos teóricos y las aplicaciones prácticas de la inmunología a fines del siglo XIX y la primera mitad del siglo XX se desarrollaron sobre todo en el aspecto humoral. Las características de las proteínas séricas que llamamos anticuerpos y los efectos de su unión con los antígenos de composición relativamente sencilla o al menos definible, iluminan los anales de la inmunología en esta época. La inmunoterapia pasiva (antidiftérica, antitetánica, antiofídica) y las vacunaciones con toxoides constituyeron los hitos iniciales. Siguieron

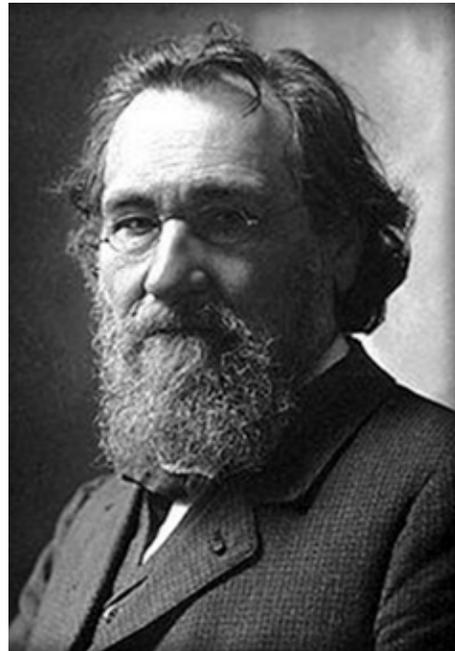


Figura 1. Elie Metchnikoff (tomado de la Internet).



Figura 2. Paul Ehrlich (tomado de la Internet).

las vacunas antivirales (anti-poliomielitis, varicela, sarampión, fiebre amarilla, hepatitis). Luego vinieron

los desarrollos fundamentales en la química de las proteínas y la estructura de las inmunoglobulinas y su caracterización precisa. Asimismo, la definición clara de los conceptos de determinante antigénico así como de las variantes matemáticas de la unión antígeno/ anticuerpo y el rol del complemento tanto en los mecanismos de defensa como en aquellos que median el daño inmunológico. Todo lo anterior predominó en los avances que tuvieron lugar hasta bien entrada la era atómica y se extienden a nuestros días. En ello deben incluirse los adelantos en el conocimiento de los grupos sanguíneos y por ende las transfusiones de eritrocitos y de plaquetas.

El brazo celular se originó también a fines del siglo XIX y sus primeras aplicaciones nacen también en esa época (las intradermoreacciones diagnósticas y pronósticas). Poco después se desarrollan el conocimiento y aplicaciones de la inmunología epicutánea v.g. las pruebas de contacto. No obstante los conceptos fundamentales de la inmunidad celular centrados en el linfocito (identificado luego como el linfocito T) tuvieron que esperar al desarrollo de los procedimientos de trasplante de células y de cultivo de tejidos, del marcaje isotópico del ADN y de avances en óptica, citoquímica, microscopia electrónica y de la inmunocitoquímica. Estos avances se hicieron inicialmente manifiestos durante el decenio que va de fines de los 50 a fines de los 60 del siglo pasado y se mantienen en progreso hoy.

El concepto didáctico de los dos brazos de la respuesta inmunológica; separados e incluso divergentes, se ha modificado para llegar a uno de vasos comunicantes los cuales se interrelacionan a diferentes niveles. El esquema final, unificador (el cual seguramente incluirá mecanismos de control e interacción que van más allá de lo que hoy entendemos como sistema inmunológico) está aún elaborándose. Solo podemos vislumbrar y no con mucho detalle aún, su aspecto definitivo.

Gran parte del desarrollo de la inmunología se hizo usando líquidos o reactivos hidrosolubles o que podían dispersarse en el agua. El resultado biológico detectable *in vitro* es el de cambios en el aspecto y la solubilidad (p.ej. turbidez, precipitación, aglutinación y hemólisis). *In vivo* se pueden detectar procesos agudos o sub-agudos de inflamación. Ello va desde la visualización de la vasodilatación hasta la puesta en evidencia de las contracciones de los músculos lisos bronquiales o intestinales mediante aparatos especiales y representaciones gráficas.

Nuestro interés se dirigió en cambio hacia las

partículas vivientes. (Microorganismos procarióticos y eucarióticos) y los mecanismos de defensa tisular contra la acción de estos microorganismos. Muchos de estos últimos producen importante daño, pero esto aparece después de una prolongada convivencia entre el huésped y el parásito.

Las variadas afecciones producidas comparten muchas características. Los gérmenes productores son parásitos intracelulares. Los mecanismos de ingreso al cuerpo son variables pero en todos intervienen predominantemente las células fagocitarias (descubiertas por Metchnikoff). Ellas ingieren a los microorganismos causales y, cargadas de ellos, son capaces de migrar y así llevar a la colonización progresiva del huésped. Los fagocitos también interaccionan entre sí y existen procesos de transferencia de carga parasitaria tanto entre células de una misma estirpe como entre estirpes diferentes. Esto incluye la fagocitosis entre polimorfonucleares; la ingestión de polinucleares por macrófagos y de macrófagos por otros macrófagos así como la fusión de estos últimos.

No todos los huéspedes en contacto con un parásito sufren de enfermedad detectable. Es posible sin embargo, la supervivencia prolongada no patológica (aparentemente) de organismos causales en el seno del huésped. La respuesta inflamatoria que desarrolla el huésped llega a ser un granuloma. Se entiende por tal un foco inflamatorio sub-agudo o crónico de cuya estructura forman parte fundamental los macrófagos y células derivadas de estos. Las características histológicas y funcionales de ese granuloma varían de acuerdo a la cronología del proceso, al órgano afectado, al germen causal y a las peculiaridades del huésped individual o de los subgrupos de los cuales forma parte.

Existen diferencias notorias, pero también similitudes resaltantes, entre los procesos de colonización exógenos mencionados hasta ahora, y los procesos de proliferación y colonización endógenos constituidos por los tumores sobre todo por los malignos. En algún momento podrá existir una integración conceptual entre ellos. Sin embargo, nuestro énfasis fundamental en el trabajo investigativo fue sobre las interacciones entre las células del ser humano y los microorganismos intracelulares que producen enfermedades crónicas granulomatosas. Sobre todo aquéllas que son propias de nuestro medio. En especial en dos de ellas, la lepra inicialmente y la paracoccidiodomicosis después. Nuestro interés ha sido en gran parte biológico más que

inmediatamente práctico. No se trata de investigación básica ni tampoco aplicada sino más bien aplicable. El conocimiento adquirido permite vislumbrar similitudes entre variados procesos granulomatosos producidos por agentes vivos. Estas semejanzas se revelan progresivamente como aparecían las imágenes en las fotos "Polaroid". Es sobre estos aspectos que versará el trabajo que presentamos hoy.

PASOS INICIALES

La formación de granulomas puede deberse a fenómenos de hipersensibilidad. La reacción de la lepromina (o de Mitsuda) es el prototipo clínico de este fenómeno (Figura 3). Desarrollamos un modelo en el cobayo y demostramos que con suspensiones de *M. leprae* purificadas por medios enzimáticos podíamos sensibilizar a animales de esa especie e inducir la formación de granulomas. La inyección de esas suspensiones en las almohadillas plantares producían reacciones en los ganglios linfáticos drenantes similares a las causadas por estímulos antigénicos convencionales.

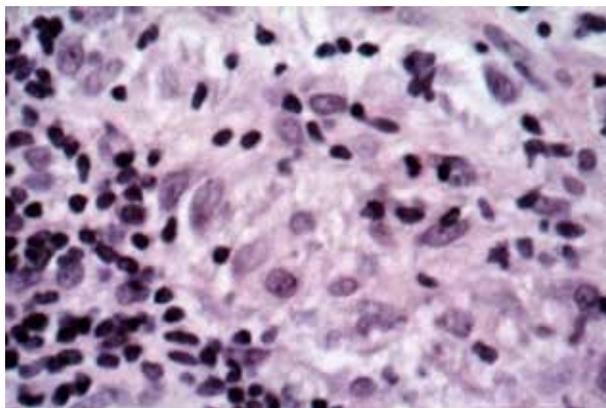


Figura 3. Granuloma tuberculoides. Prueba de Mitsuda positiva.

La respuesta granulomatosa intradérmica podía ser transmitida pasivamente por células linfoides vivas de animales isologos. No así por células muertas ni por el suero.

El desarrollo de granulomas inmunes en esos animales era bloqueado por el uso del methotrexate.

Existía reactividad cruzada entre el *M. leprae* y otras micobacterias como el bacilo de Calmette y

Guérin (BCG) *M. kansasii* y *M. phlei* entre otras (1-7).

La reactividad cruzada se situaba a nivel de la pared celular y no del protoplasma de las micobacterias. Convit y su grupo demostramos por métodos tintoriales que en el ser humano la positividad de la leprominorreacción y por ende la formación de un granuloma "inmune" se acompañaba de la digestión intracelular de los *M. leprae* matados por el calor; inyectados en personas normales o en pacientes con lepra tuberculoide. Esto no ocurría con pacientes lepromatosos o con personas lepromino-negativas. No obstante, si se mezclaban suspensiones de *M. leprae* con otras micobacterias v.g BCG, aun los lepromino-inertes formaban granulomas que digerían a las micobacterias inyectadas. Este hallazgo de Convit, formó la base de su diseño de la vacuna BCG/*M. leprae* que él ha preconizado como preventiva del mal de Hansen (8-11).

Todo lo anterior introduce el concepto de la relación (al menos cronológica) entre la hipersensibilidad celular, la resistencia a afecciones intracelulares y la digestión de los microorganismos intracelulares causales. El incremento de la capacidad digestiva puede tener, sin embargo, un espectro más amplio que el señalado por la reactividad cruzada inmunológica. Mackaness demostró que los macrófagos peritoneales de ratones sensibilizados con BCG vivos incrementaban su capacidad digestiva contra la *Listeria monocytogenes* (otra bacteria intracelular) aunque no había reactividad cruzada entre la *Listeria* y el BCG. Los BCG muertos que también pueden inducir sensibilidad a la tuberculina no eran capaces de provocar el incremento de capacidad digestiva contra la *Listeria* (12-14).

Nosotros llevamos el modelo de Mackaness al cobayo, animal de elección para el estudio de la hipersensibilidad celular. Inducimos en ellos los diversos prototipos de esta a saber: dermatitis por contacto frente al Dinitroclorobenceno (DNCB), hipersensibilidad de rechazo de injertos (usando cobayos de cepas isologas e injertos de piel y estímulos adicionales intraperitoneales así como también las inyecciones de BCG viables que empleó Mackaness). Diseñamos un método exquisitamente cuantitativo de las capacidades digestivas y letales de los macrófagos *in vitro*. Confirmamos el incremento de la capacidad letal de los macrófagos de animales (esta vez cobayos) sensibilizados contra el BCG frente a la *Listeria monocytogenes*. Encontramos, sin embargo, que tal incremento no existía en los macrófagos de animales sensibilizados con el DNCB ni en aquellos con

inmunidad de rechazo de injertos. Sostuvimos que estos resultados indicaban características diferenciales entre la llamada hipersensibilidad bacteriana y las otras formas de hipersensibilidad mediada por células. La simple administración de paredes celulares de BCG no era suficiente para provocar este incremento (15).

El alcance exacto y la definición precisa de las implicaciones de los hallazgos señalados no estaban claras en la época en la cual se hicieron ni teníamos una explicación precisa de ellos. Por eso para hacer posible la publicación tuvimos que usar un lenguaje ambiguo. Pienso que con el conocimiento actual sobre las diversas linfoquinas y citoquinas y sus propiedades, pudiera conseguirse ahora una mayor precisión en los conceptos.

Diseñamos asimismo una cámara dérmica para uso experimental en cobayos. Ella permitía inducir exudados inflamatorios en su interior y cosechar *in vivo* células de manera secuencial. El interés de esto no se halla solo en la parte citológica; ya que esta última se estudiaba ya por el método de la ventana cutánea. Nuestro método permite probar la funcionalidad de las células obtenidas. Encontramos que los macrófagos cosechados eran sensibles *in vitro* a la acción de las linfoquinas. Así se producía la inhibición específica de la migración macrofágica (16) (Figura 4).



Figura 4. Cámara dérmica en el cobayo. Cosecha del exudado.

Hasta entonces, mucho de nuestro interés se orientaba hacia la lepra. (Una afección intracelular producida por una micobacteria no cultivable la cual

crece en el interior de los macrófagos) así como hacia los propios macrófagos. Estas células en los enfermos con formas graves, no digerían a las bacterias que albergaban y los pacientes no desarrollaban hipersensibilidad granulomatosa hacia las paredes de esas bacterias. Nuestro énfasis se dirigió luego a otro grupo de células fagocitarias, los neutrófilos y a otro patógeno esta vez eucariota (Un hongo, el *Paracoccidioides brasiliensis*). Deseábamos precisar además las diferencias conceptuales entre el poder digestivo y la capacidad letal de una estirpe fagocítica determinada.

EL POLINUCLEAR NEUTRÓFILO Y EL *PARACOCIDIROIDES BRASILIENSIS*

El neutrófilo (PMN) se origina en la médula ósea y migra a la circulación pero luego es capaz de atravesar de nuevo los capilares y reentrar en los tejidos. El proceso que lleva desde la corriente al revestimiento endotelial y luego atravesar a este último e ingresar a los tejidos circundantes está regido por una compleja interacción. Lo más resaltante de esta será mencionado luego.

Entre las muchas funciones conocidas del PMN exploramos *in vitro* las siguientes: la prueba de mieloperoxidasa, la activación metabólica estimada por la prueba del nitroazul de tetrazolio (NBT), la fagocitosis de partículas inertes (como el látex), la fagocitosis de gérmenes causales, la adherencia en fibras de nylon, el estiramiento *in vitro*, la migración al azar y la quimiotaxis en cámara de Boyden, el poder digestivo frente a la *Candida albicans*) y al *Paracoccidioides brasiliensis* y la capacidad letal frente a esos mismos organismos (17). Como se verá luego es interesante la distinción conceptual entre las capacidades digestiva y letal.

Los PMNs estudiados fueron obtenidos en la mayor parte de los experimentos a partir de la sangre periférica y purificados por sedimentación en dextrán. También obtuvimos PMNs (y macrófagos ver más adelante) por lavado bronco-alveolar.

El *Paracoccidioides brasiliensis* (PARA) es un hongo dimorfo, filamentoso a temperatura ambiente y levaduriforme a 37 grados o a 34 grados (Esto es exactamente lo contrario de lo que ocurre con la *Candida albicans*). Su aspecto clásico es el de una levadura multigemante en rueda de timón. Al crecer en medios líquidos forma acúmulos de tamaños y formas variables los cuales no son fáciles de desagregar. Esto es fundamental ya que no pueden

hacerse estimaciones cuantitativas fidedignas directas a partir de esos acúmulos. Diseñamos entonces un método mediante el cual suspensiones lavadas de *P. brasiliensis* cosechadas al final de la fase logarítmica de crecimiento (o comienzos del *plateau*) fueron sometidas a ultrasonido (sonicadas) empleando un dispositivo diseñado por nosotros en el cual usábamos una ultramicropunta. La fagocitosis y la capacidad digestiva fueron estimadas por preparaciones PMN/*Paracoccidioides* sonicados mantenidos a 37 grados en una rueda rotatoria. Los intervalos óptimos fueron determinados por tanteo. Las proporciones hongo/PMN fueron hechas óptimas del mismo modo. Las preparaciones fueron estudiadas por tinción con una variante del método de Papanicolaou y con microscopia de contraste de fases. Se probaron otros métodos de coloración y el método de Papanicolaou modificado fue el que proporcionó los mejores resultados. Estos últimos fueron validados inicialmente mediante observaciones con microscopia electrónica (18,19) (Figuras 5 y 6).

La estimación de la capacidad letal de los PMNs frente a organismos como el *S. aureus* peje es relativamente sencilla. Se hace después de la incubación de suspensiones de esos fagocitos con los microorganismos usando métodos tradicionales de cultivos en medios usuales y recuento de colonias. En el caso de los PARA en cambio, hay importantes problemas técnicos. El crecimiento de los hongos es lento, se necesitan medios de cultivo especiales ya que los medios usuales son inhibitorios para este microorganismo. En especial encontramos que en el PARA existe un fenómeno que había sido



Figura 5. Un paciente con paracoccidioidomicosis.

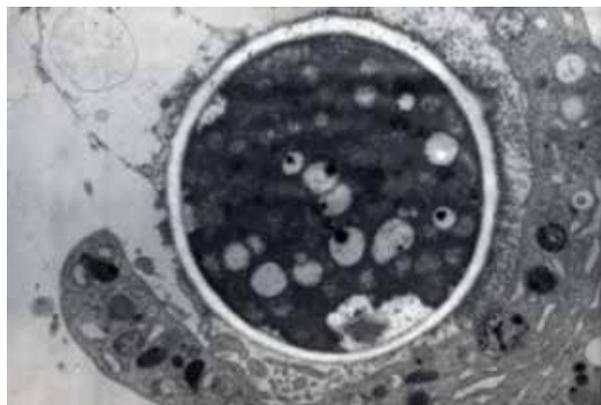


Figura 6. Fagocitosis de *Paracoccidioides brasiliensis* por un macrófago *in-vitro*. Microfotografía electrónica.

anteriormente descrito en el *Histoplasma capsulatum*. Se trata de la existencia de variaciones notorias de la eficiencia de plaqueo en función de la densidad de las formas levaduriformes. Daremos un ejemplo. Una suspensión con 1 000 levaduras por mL origina 1 000 colonias. Ellas llenan una placa de Petri de modo tal que es difícil contarlas. Una dilución al 1/10 de la anterior, esto es 100 levaduras, no produce 100 colonias (número que es fácil de contar) como sería de esperar; sino mucho menos con una eficiencia de plaqueo ínfima. Diseñamos entonces un método original de filamentación *in vitro* donde observamos la germinación de levaduras colocadas en gotas de agar a temperatura ambiente. Las levaduras filamentadas pueden verse con contraste de fases o colorearse. El método es mucho más exacto, y sobre todo más rápido y evita el problema mencionado arriba (20).

Los resultados obtenidos pueden resumirse así: los PMNs de sangre periférica de pacientes con paracoccidioidomicosis poseían funciones generales similares a las células de personas normales o de pacientes con otras enfermedades granulomatosas. Esto es, fagocitaban partículas inertes o *C. albicans*, se activaban con endotoxina, migraban en la cámara de Boyden, se estiraban y se adherían de manera comparable a la de los PMNs de grupos de control. También fagocitaban al PARA y digerían y mataban a las *C. albicans* de modo comparable a los neutrófilos de personas sanas o de aquellas con otras enfermedades granulomatosas.

La peculiaridad estaba en que los neutrófilos de la sangre periférica de pacientes con paracoccidioidomicosis no digerían ni eran capaces de

matar a los hongos causales como sí lo hacían los fagocitos de control. Se trataba por lo tanto de un defecto específico de la capacidad de digestión de esas células frente al *P. brasiliensis*. En nuestros experimentos encontramos que la capacidad letal y la capacidad digestiva eran funciones relacionadas pero no idénticas (21,22).

Existía una relación concordante entre los siguientes parámetros: magnitud de la insuficiencia digestiva, magnitud de la insuficiencia de capacidad letal, ausencia de hipersensibilidad retardada frente a la paracoccidioidina (estimada por la intradermorreacción correspondiente), elevación de los anticuerpos circulantes ante antígenos de Paracoccidioides (estimados por inmunodifusión) y la intensidad y gravedad del cuadro clínico y eventualmente radiológico. Hay casos especiales que ilustran claramente estas relaciones.

Una mujer con un paracoccidioidoma solitario del vermis cerebeloso como lesión única, fue operada (la extirpación permitió el diagnóstico). La paciente curó después de la cirugía y un tratamiento médico profiláctico. La capacidad digestiva y letal de sus PMNs era normal. No había elevación de los niveles de anticuerpos anti PARA, pero sí presencia de una intradermorreacción positiva. Es de notar la rareza de la paracoccidioidomicosis en mujeres núbiles (ver más adelante). En cambio, los pacientes con PARA diseminada, clínicamente curados mediante tratamiento médico, mantenían las deficiencias digestiva y letal de sus PMNs.

Estudios posteriores mostraron que el suero de pacientes con PARA no afecta las capacidades de los PMNs de personas normales o personas con otras enfermedades granulomatosas de digerir o matar el hongo. Por otra parte, el suero humano normal es incapaz de restaurar las deficiencias de los neutrófilos de pacientes con paracoccidioidomicosis frente al hongo causal (23).

Los PMNs de un paciente con enfermedad de Jorge Lobo (una rarísima micosis subcutánea, producida por un hongo intracelular no cultivable muy similar morfológicamente al *P. brasiliensis* y que ha sido hallado también en delfines), digerían y mataban normalmente al *P. brasiliensis in vitro*. Este hallazgo fue motivo de una publicación ya que constituye un sólido argumento para sostener la individualidad del organismo causal de la enfermedad de Lobo (24).

Si en vez de emplear hongos viables para las pruebas de digestión se usan organismos matados por el calor, la incapacidad digestiva de los PMNs

de pacientes con la enfermedad se mantiene. No así si se emplean hongos matados *in vitro* por la Anfotericina B, la cual actúa sobre las membranas fúngicas. Estos resultados ilustran de nuevo sobre la diferencia conceptual entre capacidades digestiva y letal y el rol de las membranas del hongo en la patogenia de este defecto (25,26).

UN NUEVO ESCENARIO

Se acepta que el teatro fundamental de la interacción hongos / fagocitos en la paracoccidioidomicosis es el área broncoalveolar. Estudiamos por ello (con la colaboración activa e imprescindible de los Servicios de Neumonología del Hospital José Ignacio Baldó, "El Algodonal" sobre todo en las personas de Alex Rothenberg, Guillermo Istúriz y Enrique Avila Millán, junto con otros destacados neumonólogos los cuales citamos en las referencias) las células del exudado broncoalveolar obtenidas mediante lavado broncoscópico de esa zona. Se estudiaron pacientes con diferentes patologías entre ellas paracoccidioidomicosis. Tenemos entendido que fuimos los primeros (con la acción de Alex Rothenberg) en aplicar esta técnica en Venezuela y tuvimos que diseñar soluciones apropiadas para mantener la viabilidad de las células del exudado (las soluciones usuales no eran favorables en ese sentido). Encontramos que los neutrófilos del exudado broncoalveolar de pacientes con paracoccidioidomicosis tenían una deficiencia digestiva específica frente al hongo causal en todo comparable a la que habíamos encontrado en los neutrófilos de sangre periférica. Además hallamos y esto es fundamental, que esa deficiencia digestiva específica se encontraba presente también en los macrófagos bronco-alveolares.

Los inmunofenotipos leucocitarios en el exudado broncoalveolar fueron relacionados con los obtenidos en la sangre periférica en pacientes con paracoccidioidomicosis y otras patologías. Había diferencias en las proporciones de las subpoblaciones celulares entre la sangre periférica y el exudado broncoalveolar.

En la paracoccidioidomicosis, por ejemplo, las proporciones de células CD4 eran más altas en el líquido broncoalveolar.

Estos estudios abrieron la puerta a la evaluación de diferentes subpoblaciones leucocitarias en los variados compartimientos corporales de pacientes con patologías diversas (27,28) (Figura 7).

SIGUIENDO A METCHNIKOFF

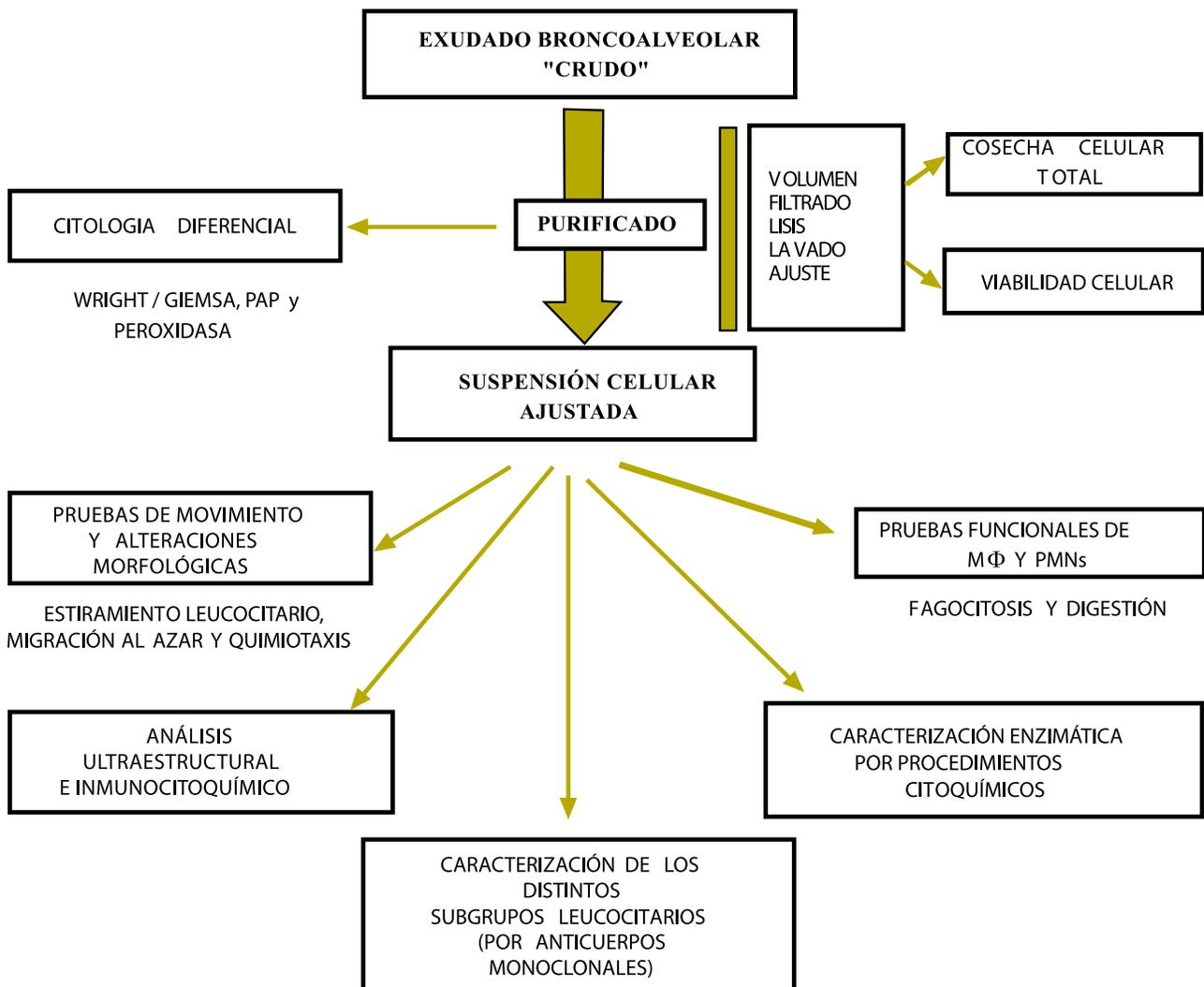


Figura 7. Flujoograma del procesamiento de la cosecha celular broncoalveolar.

En una línea de investigación adicional sobre miembros de la familia nuclear de pacientes con paracoccidioidomicosis clínicamente sanos; estudiamos la capacidad digestiva de sus polinucleares frente al *P. brasiliensis*. No pudimos encontrar la deficiencia específica de la capacidad digestiva frente al PARA en las células de estos familiares (29).

En los pacientes con paracoccidioidomicosis tratados exitosamente, la deficiencia digestiva permanecía; pese a la terapia y a la curación clínica.

CONCRETANDO

Una afección granulomatosa producida por un agente vivo intracelular se desarrolla solamente en

una pequeña proporción de las personas que se han puesto en contacto con ese agente (como lo sugiere la elevada prevalencia de intradermorreacciones positivas a la Paracoccidioidina en personas sin la enfermedad).

Tanto los fagocitos de la sangre periférica como los tisulares de personas con la enfermedad presentan una deficiencia digestiva específica frente al hongo causal. Esta deficiencia es armónica con, pero no precisamente superimponible, a la deficiencia igualmente específica de la capacidad letal. La deficiencia digestiva, esto es, una deficiencia en el procesamiento, tiene que ver con las envolturas del hongo causal (su pared y su membrana celular). Estas estructuras son precisamente

las relacionadas con los distintos tipos de granuloma como se observa en la lepra y la tuberculosis y con el estímulo de capacidades digestivas frente a variados organismos intracelulares como hemos informado que se aplica a la lepra, la tuberculosis y las infecciones por *Listeria monocytogenes* entre otros (referencias anteriores y 30).

EPÍLOGO (Como en la novela de Alexandre Dumas padre... “Veinte Años Después”).

Hemos seguido de cerca la bibliografía en lo referente a hallazgos recientes que agucen el significado de los resultados que acabamos de presentar. Incluiremos ciertos avances los cuales consideramos de interés conceptual aun cuando no se refieran directamente a la paracoccidiodomicosis. Es digno de notarse que la mayoría de los estudios experimentales se han efectuado en roedores y si bien hay cepas de estos animales sensibles o relativamente resistentes al *P. brasiliensis*, no hay un modelo natural conocido de la paracoccidiodomicosis. Las formas experimentales y el modo como se efectúan las infecciones en el laboratorio, distan mucho de lo que ocurre con los pacientes en situaciones clínicas.

Se ha hecho énfasis en las interacciones de los fagocitos entre sí; tanto en células de la misma estirpe como en células de estirpe diferente. La interacción, como era quizá de esperarse, incluye procesos de autofagia y de fagocitosis (31-36). Tanto los parásitos como las células defensivas siguen esquemas cuya similitud nos revela que son estructuras vivientes que obedecen leyes similares. Así, son de admirar los procesos migratorios que siguen los neutrófilos, pero también los gérmenes como la *Candida* (37,38). Los mecanismos de evasión que usan los agentes patógenos han sido objeto de reciente atención. Lo mismo sucede con los mecanismos de la respuesta inmunológica que al parecer siguen el esquema oscilante del “Yin-Yang”, donde una respuesta de reconocimiento puede ser destructiva para el parásito o todo lo contrario (35,39-45).

La biología es multifactorial. El estudio de la interacción de diversas enfermedades en un mismo paciente al mismo tiempo o sucesivamente, ha tenido un especial renacer con el conocimiento de lo que ocurre en los trasplantes y en el SIDA.

El conocimiento de las funciones de las paredes celulares de los microorganismos en lo que se refiere a la interacción huésped/parásito, ha sido objeto de nuestra preferente atención. Estudios

recientes refuerzan este interés, lo cual se ilustra con lo informado sobre las paredes de *Nocardia*, *Paracoccidioides* y *Candida* (46-48).

Los antiguos buscaban mediante la teoría de los humores, entender al ser humano como un todo interrelacionado en la salud y la enfermedad. Expresada a grandes rasgos sin el conocimiento de los procesos que interaccionan, esta teoría parecería ser una simple elucubración sin uso práctico. La ciencia moderna compartamentalizó subdividió y analizó lo conocido. Ahora bien, si los antiguos no pudieron ver claramente toda la verdad, quizá sí vislumbraron el contorno de la misma. Un artículo reciente nos permite ver un detalle excitante como el de una dama que apenas levanta la punta de su vestido (49).

En este sentido, ha aparecido en el número del 11 de enero del 2013 de la revista Science, una sección especial llamada “Inflamación”. En ella, cuatro revisiones fundamentales se ocupan de facetas de este enfoque de integración. A saber: el Yin-Yang inflamatorio, el rol de la microglia, el comportamiento leucocitario en la aterosclerosis, el infarto miocárdico y la insuficiencia cardíaca, la terapia antiinflamatoria en las afecciones crónicas y la acción pleiotrópica de la resistencia a la insulina y de la inflamación en la homeostasis metabólica.

No es este el sitio para analizar o siquiera resumir esta interesante serie de trabajos, sino solo señalar la congruencia de ellos con la visión que he venido presentando (50-54).

Los recientes avances aclaran en parte detalles de la interacción células/hongo y en general la interacción entre parásitos intracelulares y estirpes celulares diversas. Sin embargo, no hay aún una doctrina central y clara que permita predecir la evolución de una interacción dada ni intervenir de una manera programable en ella. Se exceptúa la acción de agentes terapéuticos que matan o dañan los microorganismos causales (Anfotericina B por ejemplo) y escasas vacunas como el BCG y combinaciones de este. En lo referente a la paracoccidiodomicosis esto ha sido resumido recientemente (55,56).

Se ha adelantado mucho en la comprensión de las propiedades de los neutrófilos en el poder letal sobre los eucariotes y en el interesante desenvolvimiento que va desde la producción de los neutrófilos en la médula ósea, su interacción con los endotelios vasculares tanto en su entrada a los vasos como en su escape de ellos. También, en su activación *vis a vis* el germen causal y en el poder letal dentro del fagocito pero también y esto, es muy importante,

fuera de él. Aquí se introduce el concepto dramático para mí, de los NETS (*Neutrophil extracellular traps*) los cuales son componentes, sobre todo nucleares, de los neutrófilos que son expulsados fuera de ellos y liquidan a microorganismos invasores. Se comportan como “bombas en racimo” (*cluster bombs*) de la guerra contemporánea (57-59).

De interés y satisfacción para nosotros es el concepto creciente de la intervención crucial e inicial del neutrófilo en el procesamiento de parásitos así como de la transmisión, vía fagocitosis pero también por otras vías, del resultado del procesamiento neutrofílico al macrófago. Asimismo es de notar el efecto de los macrófagos sobre la activación neutrofílica. Es también excitante el conocimiento de la presencia de subpoblaciones de macrófagos y de su activación diferencial dependiendo de factores de procesamiento neutrofílico pero también de la acción de linfocitos de variados tipos y de sus linfoquinas. Todo ello hace que lo que inicialmente presentamos y entendíamos como un *pas de trois*, parezca más bien un ballet de grupo numeroso. Una danza de cosacos donde cuesta trabajo visualizar tras los variados saltos y movimientos la trama fundamental del ballet y quiénes son en verdad los actores principales (32,60,61).

Está claro que en la paracoccidiodomicosis (y en otras enfermedades) hay factores adicionales que juegan un importante papel. El sexo femenino es protector en la paracoccidiodomicosis. Se trata de un fenómeno hormonal. La prevalencia de la enfermedad en niños y niñas prepúberes es comparable. No así en las personas púberes donde las mujeres son mucho menos afectadas que los hombres (62).

La afección por virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) ocasiona que las personas afectadas por la paracoccidiodomicosis, sean más jóvenes, tengan formas más graves y de progresión más rápida. Asimismo la proporción de pacientes con antecedentes de labores agrícolas es menor en los infectados con HIV que en los que no tienen esa infección. No obstante, los pacientes HIV positivos responden al tratamiento antimicótico de forma comparable a la de personas HIV negativas. Sin embargo, presentan más recidivas (63).

No está claro (más allá de lo anotado arriba) si las formas de adquisición de la enfermedad en HIV positivos y HIV negativos son diferentes o no.

El *P. brasiliensis* es un hongo cultivable, se conocen muchas cepas las cuales tienden a perder virulencia con los subcultivos. La virulencia puede recuperarse

mediante pasajes a través de animales (ej: ratones) y por cultivos en medios con suero. Hay una relación entre la patogenicidad del hongo y la estructura de la pared del mismo (alpha 1-4-glucan). No obstante no hemos podido revisar estudios genómicos detallados que permitan tener una visión precisa de los marcadores de patogenicidad de los aislados ni de la relación entre las formas clínicas y esos eventuales marcadores.

Ni nuestros estudios ni los que hemos revisado, se han hecho estudiando en todos los casos la interacción de hongos aislados de un paciente dado con los fagocitos de este. Los conceptos de “cepa patógena” se refieren a las características clínicas del caso del cual se aisló el *Paracoccidioides* y a la presencia de patogenicidad frente a animales experimentales (ej: ratones). No hicimos comparación entre los valores de las capacidades digestivas de las células de un individuo dado frente al hongo que lo infectaba con lo que ocurría ante otra cepa de *Paracoccidioides*.

En suma, no presento a Uds. un cuadro terminado que sirva como doctrina establecida y parámetro de enseñanza. Presento a Uds. más bien un mapa como el que los exploradores y cartógrafos españoles hicieron de la América en el siglo XVII o quizá a fines del XVI. Un contorno general aprendido laboriosamente por varios otros exploradores y cartógrafos. Aquí y allá hallazgos personales que detallan contornos antes difuminados y corrigen líneas dibujadas con otros trazos. En uno u otro sitio se señalan nuevos accidentes geográficos o alguna bahía interesante o un estrecho que pudiera navegarse. El mapa completo estaba aún por ser trazado pero lo que ya se tenía era digno de estudio y útil en la navegación.

REFERENCIAS

1. Gøihman Yahr M. Reacciones a la Lepromina. *Medicina Cutánea*. 1966;1:181-188.
2. Gøihman-Yahr M, Raffel S, Ferraresi RW. Cross reactivity of Lepromin with other Mycobacterial antigens. *International Journal of Leprosy*. 1968;36:129-143.
3. Gøihman-Yahr M, Raffel S, Ferraresi RW. Tissue reactions to Lepromin in normal animals. *J Investigative Dermatology*. 1968;51:19-24.
4. Gøihman-Yahr M, Ferraresi RW, Raffel S. Passive transfer of Lepromin hypersensitivity. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1969;130:390-393.
5. Gøihman-Yahr M, Raffel S, Ferraresi RW. Effects of

- Methotrexate upon the experimental Mitsuda reaction. *J Investigative Dermatol.* 1969;53:217-222.
6. Gohman-Yahr M, Raffel S, Ferraresi RW. Cross reactivity of Lepromin II Int. *Arch Allergy.* 1969;36:450-468.
 7. Gohman-Yahr M, Convit J. Cross reactivity of *Mycobacterium leprae* and BCG, a report on further studies. *Int J Leprosy.* 1972;40:62-67.
 8. Convit J, Avila JL, Gohman M, Pinardi ME. A test for the determination of competency in clearing bacilli in leprosy patients. *Bull World Health Organization.* 1972;46:821-826.
 9. Convit J, Pinardi ME, Rodríguez-Ochoa G, Ulrich M, Avila JL, Gohman-Yahr M. Elimination of *Mycobacterium leprae* subsequent to local *in vivo* activation of Macrophages in Lepromatous Leprosy by other mycobacteria. *Clin Exp Immunol.* 1974;17:261-265.
 10. Gohman-Yahr M. Thoughts on the immunology of leprosy (Editorial). *Int J Leprosy.* 1980;46:435-439.
 11. Gohman-Yahr M. Leprosy an overview. *Int J Dermatol.* 1982;21:423-431.
 12. Mackaness GB. Cellular resistance to infection. *J Exptl Med.* 1962;116:381-406.
 13. Mackaness GB. The immunological basis of acquired cellular resistance. *J Exptl Med.* 1964;120:105-120.
 14. Mackaness GB. The relationship of delayed hypersensitivity to acquired cellular resistance. *Br Med Bull.* 1967;23:52-54.
 15. Gohman-Yahr M, Raffel S, Ferraresi RW. Delayed hypersensitivity in relation to suppression of growth of *Listeria monocytogenes* by Guinea Pig macrophages. *J Bacteriology.* 1969;100:635-640.
 16. Gohman-Yahr M, Ulrich M, Noya-León A, Rojas A, Convit J. Dermal exudate macrophages: Induction in dermal chambers and response to lymphokines. *Clin Exp Immunol.* 1975;22:359-363.
 17. Gohman-Yahr M, SanMartín B, Ocanto A, Gómez MH, Pereira J, Molina T. Técnicas para la exploración del funcionamiento de las células fagocitarias. En: Contreras CE, Feo FE, Ramírez R, Blanca I, editores. *Manual de Métodos en Inmunodiagnóstico.* Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. Caracas, Venezuela; 1985.p.271-301.
 18. Gohman-Yahr M, Essinfeld Yahr E, Albornoz MC, Yarzabal L, Gómez MH, San Martín B, et al. New method for estimating digestion of *Paracoccidioides brasiliensis* by phagocytic cells *in vitro*. *J Clin Microbiol.* 1979;10:365:370.
 19. Gohman-Yahr M, Essinfeld Yahr E, Albornoz MC, Yarzabal L, Gómez MH, San Martín B, et al. Defect of *in vitro* digestive ability of polymorphonuclear leukocytes in Paracoccidioidomycosis. *Infection and Immunity.* 1980;28:557-566.
 20. Gohman-Yahr M, Pine L, Albornoz MC, Yarzabal L, Gómez MH, San Martín B, et al. Studies on plating efficiency and estimation of viability of suspensions of *Paracoccidioides brasiliensis* yeast cells. *Mycopathologia.* 1980;71:73-83.
 21. Gohman-Yahr M, Rothenberg A, Avila Millán E, Rosquete R, Albornoz MC, Kanski A, et al. Las células fagocitarias. Su funcionamiento en las enfermedades granulomatosas producidas por agentes vivos. El modelo de la Paracoccidioidomycosis. *Ciencia y Tecnología Venezolana.* 1985;2:193-198.
 22. Gohman-Yahr M, Rothenberg A, Rosquete R, Avila-Millán E, Albornoz MC, Gómez MH, et al. A novel method for estimating killing ability and digestion of *Paracoccidioides brasiliensis* by phagocytic cells *in vitro*. *Sabouraudia.* 1985;23:245-251.
 23. Gohman-Yahr M, Albornoz MCB de, Istúriz G, Viloría N, Saavedra N, Gómez MH, et al. Influence of serum on *in vitro* digestion of *Paracoccidioides brasiliensis* by neutrophils. *Mycoses.* 1990;33:111-115.
 24. Gohman-Yahr M, Cabello de Brito I, Albornoz MC, De Gómez MH, Pereira J, De Roman A, et al. Functions of polymorphonuclear leukocytes and individuality of Jorge Lobo's disease. Absence of the specific leukocyte defect against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mycoses.* 1989;32:603-608.
 25. Gohman-Yahr M, Rothenberg A, Bretaña A, Istúriz G, Rosquete R, Avila-Millán E, et al. Digestion of killed *Paracoccidioides brasiliensis* by neutrophils. *Mycopathologia.* 1989;106:53-58.
 26. Gohman-Yahr M, Pereira J, Istúriz G, Viloría N, Carrasquero M, Saavedra N, et al. Relationship between digestive and killing abilities of neutrophils against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mycoses.* 1992;35:269-274.
 27. Tapia FJ, Gohman-Yahr M, Cáceres-Dittmar G, Altieri E, Gross A, Istúriz G, et al. Leukocyte immunophenotypes in bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood of Paracoccidioidomycosis, Sarcoidosis and Silicosis. *Histol Histopathol.* 1991;6:395-402.
 28. Bretaña A, Gohman-Yahr M, Tapia FJ, Istúriz G, Viloría N, Carrasquero M, et al. Comparative ultrastructure and immunolabelling of MHC-II antigens of alveolar macrophages obtained from patients with Paracoccidioidomycosis and other lung diseases. *J Leukocyte Biology.* 1995;57:101-109.
 29. Urquiola G, Gohman-Yahr M, Bastardo de

- Albornoz MC, Istúriz G, Vilorio N, Saavedra N, et al. Specific digestive deficiency of phagocytes in Paracoccidioidomycosis. Its absence in peripheral blood neutrophils of members of the nuclear family of patients. An inicial report. *Mycoses*. 1993;36:283-287.
30. Gohman Yahr M. Los hongos, El hombre y su piel (Editorial). *Dermatología Venezolana*. 2004;42:2-3.
31. Nicola AM, Albuquerque P, Martínez LR, Del Rosso RA, Sayen C, De Jesús M, et al. Macrophage autophagy in immunity to *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*. *Infection and Immunity*. 2012;80:3065-3076.
32. Silva MT. Macrophage phagocytosis of neutrophils at inflammatory infectious loci: A cooperative mechanism in the control of infection and infectious inflammation. *J Leukocyte Biol*. 2011;89:675-683.
33. Russell DG, Vanderven BC, Glennie S, Mwandumba H, Heyderman RS. The macrophage marches on its phagosome: Dynamic assays of phagosome function. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:594-600.
34. Do Nascimento MPP, Bannwart CF, Nakaira-Takahagi E, Peracoli MTS. Granulocyte-macrophage stimulating factor enhances the modulatory effect of cytokines on monocyte derived multinucleated giant cell formation and fungicidal activity against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106:735-741.
35. Jordao L, Bleck CK, Mayorga L, Griffiths G, Anes E. On the killing of mycobacteria by macrophages. *Cellular Microbiology*. 2008;10:529-548.
36. Novais FO, Santiago RC, Báfica A, Khouri R, Alonso L, Borges VM, et al. Neutrophils and macrophages cooperate in host resistance against *Leishmania braziliensis* infection. *J Immunol*. 2009;183:8088-8098.
37. Grubb SEW, Murdoch C, Sudbery PE, Savilla JL, López-Ribot JL, Thornhill MH. *Candida albicans*-Endothelial cell interactions: A key step in the pathogenesis of systemic candidiasis. *Infection and Immunity*. 2008;76:4370-4377.
38. Wächtler B, Citiulo F, Jablonowski N, Foster S, Dalle F, Schaller M, et al. *Candida albicans* - Epithelial interactions dissecting the role of active penetration, induced endocytosis and host factors on the infectious process. *PLoS One*. 2012;7(5)e36952 (Internet).
39. Wenzel VA, Bank E, Florian C, Forster S, Zimara N, Steinacker J, et al. *Leishmania major* Parasite stage-dependent host cell invasion and immune evasion. *The FASEB Journal*. 2012;26:29-39.
40. Mulero V, Sepulcre MP, Rainger GEd, Buckley ChD. Neutrophils live in a two-way street (Editorial). *J Leukocyte Biol*. 2011;89:645-647.
41. Borregaard N. Neutrophils: From marrow to microbes. *Immunology*. 2010;33:657-670.
42. Ferreira MC de Oliveira RT, Da Silva RM, Blotta MH, Mamoni RL. Involvement of regulatory T cells in the immunosuppressive characteristics of patients with Paracoccidioidomycosis. *Infection and Immunity*. 2010;78:4392-4401.
43. Del Vecchio A, de Silva JF, da Silva JLM, Ferrari Andreoti P, Pienna Ch, Benard G, et al. Induction of apoptosis in a 459 pulmonary cells by two samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:749-754.
44. Pelletier M, Michelletti A, Cassatella MA. Modulation of human neutrophil survival and antigen expression by activated CD4+ and CD8+ T cells. *J Leukocyte Biol*. 2010;88:1163-1170.
45. Segel GB, Halterman MW, Lichtman MA. The paradox of the neutrophil's role in tissue injury. *J Leukocyte Biol*. 2011;89:359-372.
46. Trevino-Villarreal JH, Vera-Cabrera L, Guillén PL. *Nocardia brasiliensis* Cell wall lipids modulate macrophage and dendritic responses that favor development of experimental actinomycetoma in BALB/c mice. *Infection and Immunity*. 2012;80:3587-3601.
47. Puccia R, Vallejo MC, Matsuo AL, Longo LVG. The *Paracoccidioides* cell wall: Past and present layers towards understanding interaction with the host. *Frontiers in Microbiology*. 2011;2:1-7.
48. Nogueira SV, Fonseca FL, Rodrigues MI, Mundolfi V, Abi-Chacra EA, Smith AA, et al. *Paracoccidioides brasiliensis* Enolase is a surface protein that binds plasminogen and mediates interaction of yeast forms with host cells. *Infection and Immunity*. 2010;78:4040-4050.
49. Skaper JD, Giusti P, Facci I. Microglia and mast cells. Two tracks on the road to neuroinflammation. *The FASEB Journal*. 2012;26:3103-3117.
50. Mueller K. Inflammation's Yin-Yang. *Science*. 2013;339:155.
51. Aguzzi A, Barrer BA, Bennett MK. Microglia. Scapegoat. Saboteur or Something Else? *Science*. 2013;339:156-161.
52. Swirski FK, Nahrendorf M. Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction and heart failure. *Science*. 2013;339:161-166.
53. Tabas I, Glass CK. Antiinflammatory therapy in chronic disease. Challenges and Opportunities. *Science*. 2013;339:166-172.
54. Odegaard JI, Chawba A. Pleiotropic actions of insulin

- resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science*. 2013;339:172-177.
55. Fortes MRP, Kunikawa CS, Marques SA. Immunology of Paracoccidioidomycosis. *Ann Bras Dermatol*. 2011;86:516-525.
 56. Travassos IR, Taborda CP. New advances in the development of a vaccine against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Frontiers in Microbiology*. 2012;3:1-6.
 57. Bruns S, Kniemeyer O, Hasenberg M, Vishukumar A, Nietzsche S, Thywiben A, et al. Production of extracellular traps against *Aspergillus fumigatus in vitro* and in infected lung tissue is dependent on invading neutrophils and influenced by hydrophobin. *Rod A. PLoS Pathog*. 2010;6(4)e1000873(Internet).
 58. Guimaraes-Costa AB, Nascimento MTC, Froment GS, Soares RPD, Morgado FN, Conceicao-Silva F, et al. *Leishmania amazonensis* Promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps. *Proceedings National Academy of Sciences*. 2009;109:6747-6756.
 59. Alfonso L, Borges V, Cruz M, Ribeiro-Gómez FL, DosReis GA, Dutra AN, et al. Interactions with apoptotic but not with necrotic neutrophils increase parasite burden in human macrophages infected with *Leishmania amazonensis*. *J Leukocyte Biol*. 2008;84:389-396.
 60. Malawista SE, Boisfeury de AC, Naccache PH. Inflammatory gout. Observations over half a century. *The FASEB Journal*. 2011;25:4073-4078.
 61. Dos Santos SS, Spadari-Ferreira K, Almeida SR. *Paracoccidioides brasiliensis* - Induced migration of dendritic cells and subsequent T cell activation in the lung draining lymph nodes. *PLoS One*. 2011;6(5)e19690 (Internet).
 62. Shankar J, Restrepo A, Clemons KV, Stevens DA. Hormones and the resistance of women to Paracoccidioidomycosis. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24:296-313.
 63. Lora Morejón KM, Machado AC, Martínez R. Paracoccidioidomycosis in patients infected with and not infected with human immunodeficiency virus: A case controlled study. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;80:359-366.

Gac Méd Caracas 2013;121(4):307-339

Anemias hemolíticas por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)

Dra. Aixa Müller de Soyano

e-mail: asoyano@gmail.com

RESUMEN

Se presenta una revisión de las anemias hemolíticas congénitas por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa que incluye aspectos epidemiológicos, estructura de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, genética molecular, patrón de herencia de la deficiencia, implicaciones clínicas tales como crisis hemolíticas precipitadas por drogas oxidantes e infecciones, anemias hemolíticas crónicas, ictericia y kernícterus neonatal, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y malaria, enfermedad granulomatosa crónica secundaria a la deficiencia

de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, variantes de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa a escala mundial y métodos diagnósticos. Asimismo se presentan los hallazgos clínicos, bioquímicos e inmunológicos de 396 pacientes deficientes en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa estudiados por el autor durante varios años y extraídos de un conjunto de 2 586 pacientes con diversos tipos de anemias referidos al Instituto de Oncología y Hematología (Ciudad Universitaria de Caracas) y a la Clínica El Ávila con el objeto de hacer el diagnóstico de la etiología de la anemia. Se describen 2 familias venezolanas con anemia